

С. Г. Соболева, академик НАН Украины С. А. Андронати,
Т. Л. Карасева, Е. А. Костенко

Синтез и актопротекторные свойства производных 2-(β -морфолино)этилмеркапто-1,6-дигидропиримидина

Синтезированы новые производные 2-(β -морфолино)этилмеркапто-1,6-дигидропиримидина и изучена их актопротекторная и антигипоксическая активность. Полученные соединения увеличивают работоспособность (актопротекторная активность) крыс на моделях нормо-, гипо- и гипертермии и проявляют антигипоксическую активность на модели гемической гипоксии. Некоторые из изученных соединений в дозе 2,5 и 12,5 мг/кг проявили более высокую актопротекторную и антигипоксическую активность по сравнению с бемитилом.

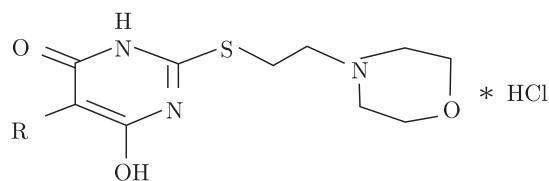
Профессиональная деятельность человека в современных условиях все более связывается с влиянием на его организм различных экстремальных воздействий: повышенных физических и психических нагрузок, резких перепадов температуры и влажности воздуха, содержания в нем кислорода, различных токсикантов, гравитационных и других факторов.

Адаптационные системы организма во многих случаях не успевают срабатывать, что приводит к быстрому истощению организма, развитию различных заболеваний, а также может быть причиной чрезвычайных ситуаций. Поэтому все большую остроту приобретает необходимость создания лекарственных препаратов не только для больных, но и практически здоровых людей. Речь идет о проблеме создания эффективных и безопасных современных средств, повышающих резистентность организма к экстремальным воздействиям как в клинических условиях, так и в процессе деятельности практически здоровых людей. Арсенал имеющихся у медиков средств лишь частично может быть использован с этой целью.

Актопротекторы — это препараты, действие которых направлено на поддержание нормальной жизнедеятельности, сохранение умственной и физической работоспособности в экстремальных условиях благодаря нормализации энергетического баланса клетки, снижения интенсивности окислительных процессов в тканях и организме в целом. За счет этого происходит экономия резерва кислорода, позволяющая особенно эффективно повышать работоспособность в экстремальных условиях. Следовательно, важнейшим эффектом актопротекторов является антигипоксическое действие. К числу актопротекторов могут быть отнесены парацетам и другие ноотропные препараты. Актопротекторы представлены веществами синтетического и природного происхождения различной структуры (гутимин, апрессин, мефексамид, центрофеноксин, изотиобармин, бемитил, аскорбиновая кислота, АТФ, жень-шень, элеутерококк, левзея и другие). Ранее было показано, что новым классом актопротекторов и антигипоксантов являются некоторые производные дигидропиримидина [1–3].

В настоящем исследовании нами были синтезированы и фармакологически изучены новые производные дигидропиримидина 1–7.

© С. Г. Соболева, С. А. Андронати, Т. Л. Карасева, Е. А. Костенко, 2013



1 R = *i*-C₃H₇; **2** R = *i*-C₄H₉; **3** R = C₅H₁₁; **4** R = *i*-C₅H₁₁; **5** R = C₆H₁₃; **6** R = C₇H₁₅; **7** R = C₆H₅

5-Замещенные 2-(β-морфолино)этилмеркапто-1,6-дигидропиримидин-4-ол-6-оны (**1–7**) получали конденсацией 5-замещенных тиобарбитуровых кислот с гидрохлоридом N-(β-морфолино)этилхлорида в водной среде в присутствии едкого натра (способ 1) или в условиях межфазного катализа в системе вода — хлороформ — едкий натр в присутствии дибенз-18-краун-6 (способ 2). Структура веществ подтверждена методами ИК спектроскопии, масс-спектрометрии и ¹H ЯМР спектроскопии.

В ИК-спектрах соединений **1–7** присутствуют интенсивные полосы поглощения карбонильной группы при 1660–1630 см⁻¹ (амид-1), C=N связи при 1560–1530 см⁻¹, NH- и OH- групп в области 3420–3450 см⁻¹, полосы валентных колебаний CH связей метиленовых групп при 2850–2920 см⁻¹. Масс-спектры соединений характеризуются наличием пиков молекулярных ионов соответствующих оснований, а также пиков максимальной интенсивности, соответствующих потере фрагментов H2C=N+(CH2)3O (m/z 100) и H2C=CH-N+(CH2)3O (m/z 113). ¹H ЯМР спектры содержат пики всех типов протонов соединений (**1–7**).

Экспериментальная часть. Индивидуальность веществ устанавливали методом ТСХ на пластинках Silufol UV 254 в системах хлороформ — этанол — ацетон 25% раствор NH₃ (5 : 4 : 3 : 1) и бутанол — уксусная кислота — вода (3 : 1 : 1); проявители: УФ, пары иода. ИК-спектры записывали на спектрофотометре Specord IR 75 в таблетках KBr. Масс-спектры регистрировали в масс-спектрометре МХ-1321, энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Температура камеры ионизации 200 °С. ¹H ЯМР спектры записывали на приборе Varian WXP-300 с рабочей частотой 299,95 МГц в растворе DMSO-d₆, внутренний стандарт ТМС.

Синтез гидрохлорида 5-изопропил-2-(β-морфолино)этилмеркапто-1,6-дигидропиримидин-4-ол-6-она (1). Способ 1: 1,86 г (0,01 моль) 5-изопропил-2-тиобарбитуровой кислоты растворяют в 10 мл воды, содержащей 0,44 г (0,011 моль) NaOH и добавляют 2,23 г (0,012 моль) гидрохлорида N-(β-морфолино)этилхлорида. Нагревают 48–50 ч при температуре 65–70 °С. Охлаждают, осадок отделяют и перекристаллизуют из смеси вода : спирт (1 : 1). Получают 1,8 г (54%) продукта **1**. Т. пл. 240–245 °С. ¹H ЯМР (δ, м. д.) 1,12 д [6H, 2CH₃(*i*-C₃H₇)]; 3,07 уш. с [1H, CH]; 3,3 м [2H, S-CH₂]; 3,35–3,50 м [6H, CH₂-N(CH₂)₂]; 3,86–4,00 м [4H, CH₂-O-CH₂]; 11,1 с [1H, NH]; 12,05 с [1H, OH].

Способ 2: к смеси 1,86 г (0,01 моль) 5-изопропил-2-тиобарбитуровой кислоты, 2,05 г (0,011 моль) гидрохлорида N-(β-морфолино)этилхлорида и 0,036 г дибенз-18-краун-6 в 10 мл хлороформа прибавляют 0,8 г (0,02 моль) NaOH в 10 мл воды, кипятят при перемешивании 10–12 ч и затем охлаждают. Слои разделяют, водный слой экстрагируют хлороформом, хлороформные вытяжки сушат сульфатом натрия. Хлороформ отгоняют в вакууме, остаток растворяют в ацетоне и подкисляют спиртовым раствором HCl. Выпавший осадок перекристаллизуют из смеси спирт : вода (1 : 1). Выход 2,55 г (76%).

В описанных условиях синтезированы соединения **2–7**: **2** — т. пл. 215–220 °С; выход 49% (способ 1); 63% (способ 2). **3** — Т. пл. 225–230 °С; выход 55% (способ 1); 71% (способ 2). **4** —

Т. пл. 189–192 °С; выход 62% (способ 2). **5** — Т. пл. 210–213 °С; выход 66% (способ 2). **6** — Т. пл. 220–223 °С; выход 78%. **7** — Т. пл. 217–221 °С; выход 67% (способ 2).

Изучение фармакологических свойств проводилось на белых беспородных крысах, массой 160–280 г и мышках массой 25–30 г. Исследуемые соединения вводились внутривентриально в виде суспензии с Твин-80 в дозах 2,5 и 12,5 мг/кг за 40 мин до начала тестирования. Крысам и мышам контрольных групп вводили внутривентриально 0,9% раствор NaCl. В качестве препарата сравнения использовался бемитил в дозах 2,5 и 12,5 мг/кг. Для изучения влияния синтезируемых соединений на работоспособность использовалась модель плавательной пробы в условиях гипотермии, нормотермии и гипертермии при температуре воды 10, 28 и 40 °С соответственно [4]. В этих условиях определяли продолжительность плавания крыс с нагрузкой на хвосте (вес нагрузки составлял 10% массы тела крысы) в бассейне под действием исследуемых веществ до появления признаков полного утомления (ныряние, опускание на дно). Каждая доза веществ изучалась на выборке из 10 животных [5]. Антигипоксическую активность исследуемых веществ определяли методом гемической гипоксии с нитритом натрия [6]. Токсичность исследуемых соединений определяли методом “Литчфилда и Уилкоксона” [7]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась методом расчета средней арифметической и ее уровня значимости с использованием коэффициента Стьюдента [8].

В результате проведенных исследований в данном ряду были обнаружены соединения с выраженными актопротекторными свойствами. Так, в дозе 2,5 мг/кг соединения **1–4** и **6** достоверно увеличивают в 1,5–2,3 раза время плавания крыс с нагрузкой на хвосте в бассейне в условиях нормотермии по сравнению с контролем (табл. 1). Наиболее активными оказались соединения **1** и **2**. Изопропил- и изобутилпроизводные в дозе 2,5 мг/кг достоверно увеличивали продолжительность плавания крыс в бассейне по сравнению с контролем в 2 и 2,3 раза соответственно, а также на 120 и 154% превосходили по эффективности бемитил (2,5 мг/кг). Следует отметить, что бемитил в дозах 2,5 мг/кг на указанной модели не повышает работоспособность животных и продолжительность плавания крыс не отличается от контрольных значений. Вещества **5** и **7** практически не влияют на работоспособность крыс, так как время плавания подопытных животных находится на уровне контрольных значений.

Из представленных данных видно, что у контрольных крыс продолжительность плавания в воде (10 °С) в среднем составила 86 с. Введение в организм животных соединений

Таблица 1. Влияние соединений **1–7** в дозе 2,5 мг/кг на работоспособность крыс на модели плавательной пробы в условиях нормо-, гипо- и гипертермии в сравнении с бемитилом (2,5 мг/кг), $n = 10$

Соединения	Длительность плавания крыс, с		
	28 °С	10 °С	40 °С
1	256* ± 19,5	213* ± 17,2	328* ± 32,4
2	295* ± 30,5	130* ± 11,4	202* ± 18,3
3	185* ± 14,7	173* ± 15,4	208* ± 19,5
4	177* ± 13,8	109* ± 11,2	—
5	130 ± 10,4	151* ± 12,3	—
6	189* ± 15,8	120* ± 8,4	234* ± 24,1
7	144 ± 15,3	171* ± 15,2	—
Контроль	127 ± 13,2	86 ± 7,5	159 ± 16,1
Бемитил 2,5 мг/кг	116 ± 12,1	78 ± 7,9	140 ± 13,2

* Достоверно при $p < 0,05$ по сравнению с бемитилом.

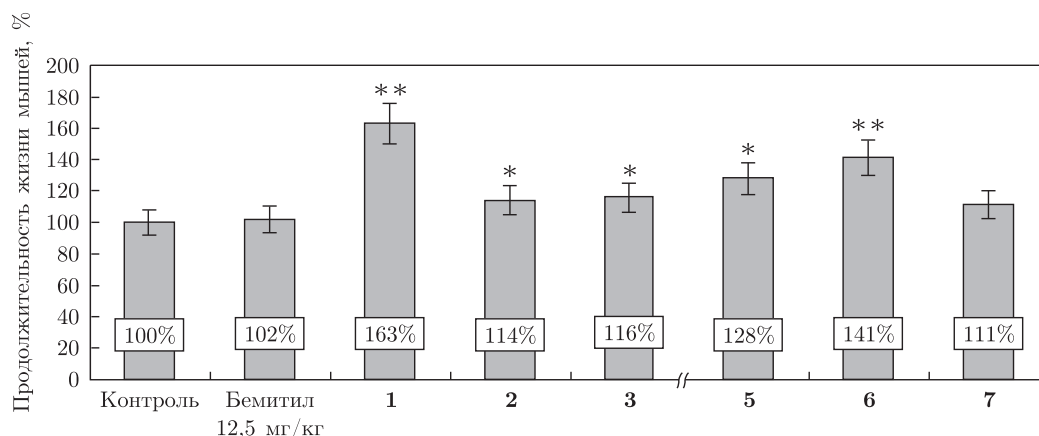


Рис. 1. Антигипоксическая активность соединений **1–7** в дозе 12,5 мг/кг в сравнении с бемитилом (12,5 мг/кг).

*Достоверность отличий в сравнении с бемитилом, $p \geq 0,05$; **достоверность отличий в сравнении с контролем, $p \geq 0,05$

1–7 повышает физическую работоспособность крыс в условиях опыта (см. табл. 1). При этом соединения **1, 3, 5 и 7** увеличивают продолжительность времени плавания крыс в 2,5, 2,0, 1,7 и 2 раза соответственно по сравнению с контрольными показателями. Наиболее высокой эффективностью обладают соединения **1, 3, 5 и 7**, которые на 173, 121, 93 и 119% соответственно усиливают работоспособность животных в плавательной пробе в сравнении с бемитилом (2,5 мг/кг). Соединения **2, 4 и 6** оказались менее эффективными в условиях гипотермии в сравнении с соединениями **1, 3, 5, 7**. Термопротекторную активность соединений **1–7** оценивали по физической выносливости крыс — продолжительности плавания до появления утомления в воде при +40 °С. В условиях гипертермии (см. табл. 1) наиболее эффективными оказались вещества **1 и 6**, которые в 2 и 1,4 раза соответственно увеличивали физическую выносливость животных по сравнению с контролем. Следует отметить, что соединение **1** с изопропильным заместителем в положении **5** на 134% превышает по активности препарат сравнения бемитил, а соединение **6** — на 67%, при этом продолжительность плавания крыс при гипертермии под влиянием соединения **1** на 28% выше, чем при нормотермии.

Известно, что одной из существенных особенностей действия актопротекторов является способность сохранять высокую физическую работоспособность в условиях экстремальных тепловых нагрузок [9]. Коррекция гипертермии актопротекторами проявляется в нормализации энергетического обмена, стабилизации окислительного фосфолирования, торможении перекисного и микросомального окисления, защите биологических мембран [9]. Универсальность актопротекторных средств заключается в том, что они действуют не на системном, а на клеточном (тканевом) уровне. Именно клеточный уровень действия этих препаратов допускает возможность профилактики смягчения влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на любой орган [9].

Антигипоксическая активность соединений в дозе 12,5 мг/кг была изучена в опытах на мышах. В результате проведенных экспериментов было установлено, что соединение **1, 5, 6** в дозе 12,5 мг/кг обладает выраженной антигипоксической активностью (рис. 1). Так, подопытная группа животных при введении веществ **1, 5, 6** прожила на 63, 28 и 41% соответственно больше контрольной с нитритом натрия, что свидетельствует о выраженном

антигіпоксическом ефекте соединений. Соединение **1** по противогіпоксической активности на 23% превосходило по эффекту бемитил, а соединение **6** проявило такой же противогіпоксический эффект, как бемитил.

Таким образом, соединения **1–7** относятся к малотоксичным соединениям. Их ЛД₅₀ ≥ ≥ 650 мг/кг.

1. Пат. 1263 Украина. Хлоргидрат 2-(β-диэтиламино)этил-5-изопропилтиобарбитуровой кислоты, проявляющий антигіпоксическую и адаптогенную активность, и способ его получения / А.В. Богатский, С.А. Андронати, Л.А. Литвинова и др. – Оубл. 30.12.93; Офіц. бюл. “Промислова власність” № 3.
2. Соболева С. Г., Герасименко И. Ф., Кравчук Л. Г. и др. 2-(β-Диэтиламино)этилмеркаптодигидропиримидины // Докл. АН. – 1992. – **327**, № 3. – С. 349–353.
3. Соболева С. Г., Полякова М. А., Андронати С. А. и др. Поиск актопротекторов в ряду производных пиримидина // Тез. докл. IV Всесоюз. симп. по целенаправленному изысканию физиологически активных веществ. – Рига: Б. и., 1981. – С. 76–78.
4. Бобко Ю. Г., Виноградов В. М., Катков В. Ф. Фармакологическая коррекция утомления. – Москва: Медицина, 1984. – 208 с.
5. Стребнева В. М., Давыдова В. Н., Хасина Э. И. и др. Влияние хитозана на физическую работоспособность // XI Рос. нац. конгр. “Человек и лекарство”: Тез. докл. – Москва: Б. и., 2004. – С. 831–832.
6. Лук'яничук В. Д., Савченкова Л. В., Немайх О. Д. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів: Методичні рекомендації. – Київ: Здоров'я, 2002. – 28 с.
7. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – Москва: Медицина, 1974. – 130 с.
8. Лажин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для студентов биол. спец. высш. учеб. заведений. – Москва: Высш. шк., 1990. – 350 с.
9. Новиков В. С., Шустов Е. Б., Горанчук В. В. Фармакологическая коррекция гипертермии и гипотермии // ЦЭМПИИИФОРМ. – 2001. – № 4(46). – С. 14–16.

Фізико-хімічний інститут
ім. А. В. Богатського НАН України, Одеса
Одеський національний університет
ім. І. І. Мечникова

Поступило в редакцію 02.07.2012

**С. Г. Соболева, академік НАН України С. А. Андронати, Т. Л. Карасьова,
К. А. Костенко**

Синтез і актопротекторні властивості похідних 2-(β-морфоліно)етилмеркапто-1,6-дигідропіримідину

Синтезовано нові похідні 2-(β-морфоліно)етилмеркапто-1,6-дигідропіримідину та вивчено їх актопротекторну й антигіпоксичну активність. Отримані сполуки підвищують працездатність (актопротекторну активність) щурів на моделях нормо-, гіпо- і гіпертермії та володіють антигіпоксичною активністю на моделі гемічної гіпоксії. Деякі з вивчених сполук у дозах 2,5 й 12,5 мг/кг виявили більш високу актопротекторну й антигіпоксичну активність у порівнянні з бемітилом.

S. G. Soboleva, Academician of the NAS of Ukraine **S. A. Andronati**,
T. L. Karasyova, **E. A. Kostenko**

**Synthesis and actoprotective properties of
2-(β -morpholino)ethylmercapto-1,6-dihydropyrimidine derivatives**

2-(β -Morpholino)ethylmercapto-1,6-dihydropyrimidine derivatives are synthesized, and their actoprotective and antihypoxic properties are studied. The obtained compounds raise the capacity work of rats (actoprotective activity) on the models of normo-, hypo-, and hyperthermia and possess antihypoxic effects on the model of haemic hypoxia. Some of these compounds in a dose of 2.5 mg/kg demonstrate a higher actoprotective and antihypoxic activity than that of bemitylum.